

30 JUN 2004

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
17. Juli 2003 (17.07.2003)

PCT

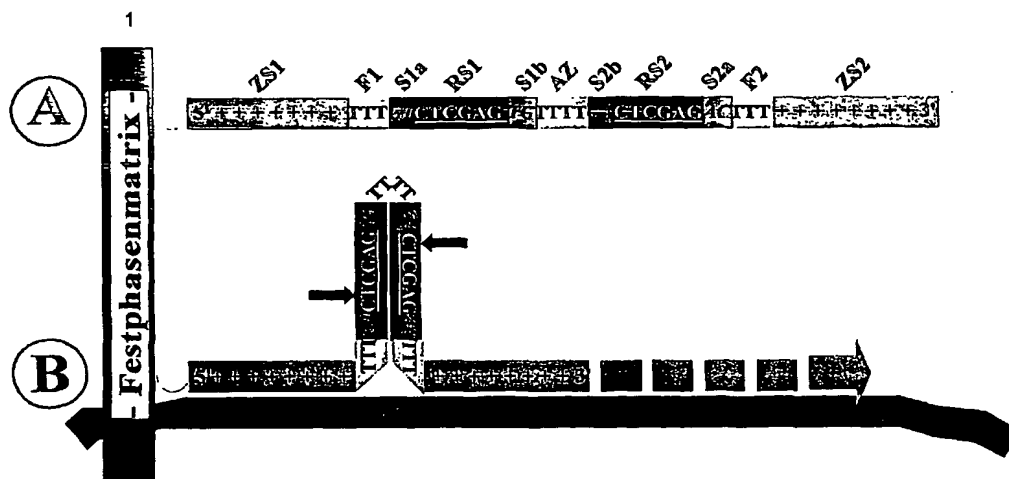
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 03/057908 A3

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C12Q 1/68 (81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE02/04754
- (22) Internationales Anmeldedatum:  
31. Dezember 2002 (31.12.2002)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:  
101 64 219.9 31. Dezember 2001 (31.12.2001) DE
- (71) Anmelder und
- (72) Erfinder: REPP, Reinald [DE/DE]; Brüsseler Strasse 30, 36039 Fulda (DE).
- (74) Anwälte: DEY, Michael usw.; Weickmann & Weickmann, Postfach 860 820, 81635 München (DE).
- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHODS FOR DETECTING NUCLEIC ACIDS WHILE USING SOLID PHASE BOUND PRIMERS AND CLEAVING THE PRODUCTS OF A CYCLIC AMPLIFICATION REACTION (TRAP RELEASE PRIMER AMPLIFICATION (TRAMP))

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR DETEKTION VON NUKLEINSÄUREN UNTER VERWENDUNG FESTPHASENGEBUNDENER PRIMER UND ABSPALTUNG DER PRODUKTE EINER ZYKLISCHEN AMPLIFIKATIONSREAKTION (TRAP RELEASE PRIMER AMPLIFICATION (TRAMP))



1 ... solid phase matrix

(57) Abstract: The invention relates to methods for detecting nucleic acids with the aid of an amplification reaction whereby involving a novel structure of solid phase bound starter molecules (primers) with a cyclic amplification reaction on the solid phase and a transformation of the amplification products into the aqueous phase. The solid phase bound primers, by binding to their specific target sequence, undergo a conformation change that generates a cleaving site. Newly synthesized reaction products can be cleaved and transformed into the aqueous phase via this cleaving site. In the following reaction cycle, these reaction products are provided as additional matrices (templates) whereby enabling an exponential product multiplication.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 03/057908 A3

**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

**(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen****Recherchenberichts:**

27. November 2003

---

**(57) Zusammenfassung:** Die vorliegende Erfindung betrifft Verfahren zur Detektion von Nukleinsäuren mit Hilfe einer Amplifikationsreaktion, wobei eine neuartige Struktur festphasengebundener Startermolekülen (Primern) mit zyklischer Amplifikationsreaktion an der Festphase und Überführung der Amplifikationsprodukte in die wässrige Phase zum Einsatz kommen. Dabei erfahren die festphasengebundene Primer durch die Bindung an ihre spezifische Zielsequenz eine Konformationsänderung, die eine Spaltstelle generiert. Über diese Spaltstelle können neu synthetisierte Reaktionsprodukte abgespalten und in die wässrige Phase überführt werden. Im folgenden Reaktionszyklus stehen diese als zusätzliche Matrizen (Templates) zur Verfügung, wodurch eine exponentielle Produktvermehrung möglich wird.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Int. Application No  
 PCT/DE/04754

 A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
 IPC 7 C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

 Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
 IPC 7 C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data, EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| A          | SHAPERO, MICHAEL H. ET AL: "SNP genotyping by multiplexed solid-phase amplification and fluorescent minisequencing" GENOME RESEARCH, vol. 11, no. 11, 2001, pages 1926-1934, XP002252459 abstract; figures 1A,1B,2A<br>--- |                       |
| A          | WO 00 22163 A (LEHMANN WERNER ;ATTOMOL GMBH MOLEKULARE DIAGNO (DE)) 20 April 2000 (2000-04-20) abstract page 1 -page 5 page 5, paragraph 2 - paragraph 3 figures 1-5<br>---<br>-/--  |                       |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*G\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 August 2003

Date of mailing of the international search report

30/09/2003

Name and mailing address of the ISA

 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Leber, T

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No  
PCT/DE 04754

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| A          | ADESSI C ET AL: "Solid phase DNA amplification: characterization of primer attachment and amplification mechanisms" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, vol. 28, no. 20, 15 October 2000 (2000-10-15), page e87 XP002169484 ISSN: 0305-1048 cited in the application abstract figure 1 |                       |
| A          | DE 196 24 562 A (KOEHLER THOMAS DR ;ROST ANNE KATRIN DIPL BIOL (DE)) 2 January 1998 (1998-01-02) abstract page 3, line 22 - line 39 page 4, line 4 -page 5, line 8  |                       |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/DE/04754

| Patent document<br>cited in search report |   | Publication<br>date |    | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|---|---|---------------------|----|----------------------------|---------------------|
| WO 0022163                                | A | 20-04-2000          | AU | 6471399 A                  | 01-05-2000          |
|   |   |                     | WO | 0022163 A2                 | 20-04-2000          |
|   |   |                     | EP | 1121469 A2                 | 08-08-2001          |
| DE 19624562                               | A | 02-01-1998          | DE | 19624562 A1                | 02-01-1998          |

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
IPK 7 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

CHEM ABS Data, EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile   | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|--|--------------------|
| A          | SHAPERO, MICHAEL H. ET AL: "SNP genotyping by multiplexed solid-phase amplification and fluorescent minisequencing"<br>GENOME RESEARCH ,<br>Bd. 11, Nr. 11, 2001, Seiten 1926-1934,<br>XP002252459<br>Zusammenfassung; Abbildungen 1A, 1B, 2A<br>--- |                    |
| A          | WO 00 22163 A (LEHMANN WERNER ;ATTOMOL GMBH MOLEKULARE DIAGNO (DE))<br>20. April 2000 (2000-04-20)<br>Zusammenfassung<br>Seite 1 -Seite 5<br>Seite 5, Absatz 2 - Absatz 3<br>Abbildungen 1-5<br>---<br>-/-   |                    |

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*g\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

26. August 2003

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

30/09/2003

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Leber, T

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile   | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|--|--------------------|
| A          | ADESSI C ET AL: "Solid phase DNA amplification: characterization of primer attachment and amplification mechanisms"<br>NUCLEIC ACIDS RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB,<br>Bd. 28, Nr. 20,<br>15. Oktober 2000 (2000-10-15), Seite e87<br>XP002169484<br>ISSN: 0305-1048<br>in der Anmeldung erwähnt<br>Zusammenfassung<br>Abbildung 1 |                    |
| A          | DE 196 24 562 A (KOEHLER THOMAS DR ;ROST ANNE KATRIN DIPL BIOL (DE))<br>2. Januar 1998 (1998-01-02)<br>Zusammenfassung<br>Seite 3, Zeile 22 - Zeile 39<br>Seite 4, Zeile 4 -Seite 5, Zeile 8   |                    |

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zu einer Patentfamilie gehören

Inte is Anzeichen  
PCT/DE 04754

| Im Recherchenbericht<br>angeführtes Patentdokument |   | Datum der<br>Veröffentlichung | Mitglied(er) der<br>Patentfamilie |             | Datum der<br>Veröffentlichung |
|--|---|-------------------------------|-----------------------------------|-------------|-------------------------------|
| WO 0022163   | A | 20-04-2000                    | AU                                | 6471399 A   | 01-05-2000                    |
|  |   |                               | WO                                | 0022163 A2  | 20-04-2000                    |
|  |   |                               | EP                                | 1121469 A2  | 08-08-2001                    |
| <hr/>  |   |                               |                                   |             |                               |
| DE 19624562  | A | 02-01-1998                    | DE                                | 19624562 A1 | 02-01-1998                    |
| <hr/>  |   |                               |                                   |             |                               |